

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平7-500191

第6部門第1区分

(43) 公表日 平成7年(1995)1月5日

| (51) Int. Cl. ⁴ | 識別記号 | 序内整理番号 | F I |
|----------------------------|-------|----------|-----|
| G 0 1 N 33/543 | 5 9 7 | 9217-2 J | |
| 21/05 | | 9118-2 J | |
| 21/64 | Z | 9118-2 J | |
| 21/76 | | 9408-2 J | |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求(全 6 頁)

| | |
|---------------|---|
| (21) 出願番号 | 特願平6-505373 |
| (86) (22) 出願日 | 平成5年(1993)7月23日 |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成6年(1994)4月4日 |
| (86) 国際出願番号 | PCT/US93/06967 |
| (87) 国際公開番号 | WO94/03104 |
| (87) 国際公開日 | 平成6年(1994)2月17日 |
| (31) 優先権主張番号 | 924, 720 |
| (32) 優先日 | 1992年8月3日 |
| (33) 優先権主張国 | 米国 (US) |
| (81) 指定国 | EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), CA, JP |

| | |
|----------|--|
| (71) 出願人 | サビダイン・インコーポレーテッド アメリカ合衆国マサチューセッツ州01801, ウォバーン, ニュー・ボストン・ストリー ト 175-ティール |
| (72) 発明者 | ラッキー, スティーヴ・ジェイ アメリカ合衆国マサチューセッツ州, レキ シントン, プレザント・ストリート 108 |
| (74) 代理人 | 弁理士 湯浅 祐三 (外6名) |

(54) 【発明の名称】 検定システム

(57) 【要約】

励起輻射線および蛍光線の両方ともを集束しうるレンズ、後者の光学軸を横断しそして焦点領域を通過して伸びるレンズに設けられた液体流れを案内する導管とを含む、一般に蛍光標識物を使用する、液体サンプルの検定方法を提供する。一つ以上の機械的スクリーンを、導管において焦点領域に隣接して設け、ビーズ直径の関数としてビーズの通過を阻止する。予めリガンド/結合複合体たとえば特異的結合リガンドの少なくとも一部で被覆されたビーズは好ましくは実質的に励起輻射線および蛍光線の両方ともに透過性である。

請求の範囲

1. 液体サンプルを検定するための装置であって、

その中を流れる液体流れに通ずる中空の光透過性導管手段；および

前記導管手段に設けられた光透過性物質の多孔性塊状物であって、前記光透過性物質の塊状物の多孔度は前記サンプルの液体流れを許すように選択され、前記塊状物はリガンド/結合複合体の少なくとも一部をその表面上に固定しているもの；

とを、組み合わせて含むこととなる前記装置に使用するためのフローセル。

2. 前記導管手段内に設けられこれにより前記導管手段における直の少なくとも一つの壁を構成する流動性多孔質バリアー手段を含み、その際、

前記多孔性塊状物が特定範囲の直径に寸法が決められた複数の粒子を含み、前記バリアー手段の多孔度が前記範囲より十分小さく前記粒子が前記室における前記バリアー手段により捕獲され前記多孔性塊状物を形成することからなる請求項1記載のフローセル。

3. 前記バリアー手段が相互に間隔を空けて離れた少なくとも一対のスクリーンを含み、前記スクリーンのメッシュが前記範囲の直径より十分小さく前記粒子が前記室における前記スクリーンにより捕獲され前記多孔性塊状物を形成し、前記粒子が前記リガンド/結合複合体の少なくとも各々の部分をその表面上に固定している請求項2記載の装置。

4. 前記バリアー手段が一対のスクリーンを複数個含み、各々の前記一対のスクリーンが相互に間隔を空けて離れておりこれにより前記導管手段内にそれぞれの反応室を構成し；

各々の前記室は特定範囲の直径に寸法が決められた複数の粒子を含み、前記スクリーンのメッシュが前記範囲の直径より十分小さく前記粒子が各々の前記室における前記スクリーンにより捕獲されそれぞれの多孔性塊状物を形成し、各々の前記塊状物の粒子が前記それぞれのリガンド/結合複合体の少なくともそれぞれの部分をその表面上に固定している請求項2記載の装置。

5. 液体サンプルを検定するための装置であって、

集束光学レンズ手段；

15. 前記管の周囲にそして前記管と前記通路の中間に設けられた屈折率適合性液体を含む請求項14記載の装置。

16. 前記通路の一部が前記レンズ手段における細長い半管状の第一のチャンネルとして形成され、そして前記通路の残りの部分が前記第一のチャンネルと適合する細長い半管状の第二のチャンネルとして形成される請求項7記載の装置。

17. 前記第二のチャンネルが前記通路の内側表面の少なくとも一部を形成する反射性表面を有する請求項16記載の装置。

18. 特定範囲の直径に寸法が決められた複数の粒子を含み、前記流動性多孔質手段が前記範囲より小さな直径の孔を有しこれにより前記粒子が前記バリアー手段に対向して前記導管手段に付着して実質的に前記焦点領域に設けられた多孔性塊状物を形成する請求項8記載の装置。

19. 前記粒子が実質的に光透過性である請求項18記載の装置。

20. 前記粒子がその表面の少なくとも一部にリガンド/結合複合体の少なくとも一部が被覆された請求項19記載の装置。

21. 動起したとき放射線を放出しうる標識物を用いた液体サンプルを検定するための装置であって、

前記放射線を集束することができそしてその中で前記レンズ手段の焦点領域を通り前記レンズ手段の光学軸を横断して伸びるレンズ手段であって、前記導管手段は液体流れに通ずるものであり；

粒子径の調節としての前記多孔性手段を通る粒子の通路を制限するために前記導管手段において前記焦点領域に隣接して設けられた流動性多孔質バリアーとを含む前記装置。

22. 前記放射線の放出を動起するための手段を含む請求項21の装置。

23. 前記放出を動起するための前記手段が動起放射線の供給源および前記動起放射線を前記焦点領域で前記導管手段に向けさせる手段とを含む請求項22記載の装置。

24. 前記放出が蛍光である請求項23記載の装置。

25. 特定範囲の直径に寸法が決められた複数の粒子を含み、

前記流動性多孔質手段が前記範囲より小さな直径の孔を有し、これにより

液体流れを通ずるのに適しそして前記レンズ手段の焦点領域を通ずる前記レンズ手段の光軸を横断して伸びる前記レンズ手段を通る中空の円筒状通路

とを、組み合わせて含むこととなる前記装置に使用するためのフローセル。

6. 前記レンズ手段が複数のレンズを含みそして前記通路が前記レンズの一つを通して伸びる導管手段を含む請求項5記載の装置。

7. 前記導管手段に設けられた光透過性物質の多孔性塊状物を含み、前記透過性物質の塊状物の多孔度を前記液体サンプルの流れを許すように選択し、前記塊状物はリガンド/結合複合体の少なくとも一部をその表面上に固定している請求項6記載の装置。

8. 前記導管手段を通る予め決められた大きさの粒子の流れを遮断するように寸法を決められそして前記焦点領域に隣接して設けられた機械的、流動性多孔質バリアー手段を含む請求項5記載のフローセル。

9. 前記レンズの前記一つにおける第一の細長い半管状チャンネルおよび第二の細長い半管状チャンネルであって、前記チャンネルが互いに合わさって前記導管手段を構成するものを含む請求項6記載の装置。

10. 前記第二の半管状チャンネルがその凹面において光反射性表面を有する請求項9記載の装置。

11. 前記第一のチャンネルの前記一つの伸長端部が前記第二のチャンネルの伸長端部と隣接して接続している請求項9記載の装置。

12. 前記中空導管手段が前記円筒状通路に位置する光透過性管を含み、前記バリアー手段が前記管に設けられている請求項8記載の装置。

13. 前記バリアー手段が相互に間隔を空けた一対のスクリーンを含み、これにより前記管内に反応室を構成し；そして

特定範囲の直径に寸法が決められた複数の粒子を含み、前記スクリーンのメッシュは前記範囲より十分小さくこれにより前記粒子が前記室の前記スクリーンにより捕獲され実質的に前記焦点領域に位置可能な多孔性塊状物を形成する請求項12記載の装置。

14. 前記レンズ手段および前記管の屈折率が実質的に適合する請求項12記載の装置。

前記粒子を前記多孔性バリアーに対向して前記導管手段に付着して実質的に前記焦点領域に設けられた多孔性塊状物を形成することからなる請求項23記載の装置。

26. 前記粒子が前記動起放射線と前記蛍光線の両方ともに対し透過性であり、そして固定した特異的結合リガンドで被覆された請求項25記載の装置。

27. 前記リガンドがリガンド/結合反応で複合体を形成し、前記複合体が適当な動起放射線により動起された場合蛍光を発生しうる分子で標識化される請求項26記載の装置。

28. リガンド/結合複合体から放出される放射線の検出により液体サンプルを検定する方法であって、該方法が次の工程；

特定範囲の直径に寸法が決められた複数の粒子を準備し；

前記粒子の懸濁液を後者の焦点領域を通りレンズ手段の光軸を横断して伸びる導管手段に流し；

前記範囲より小さい直径の孔を有する多孔性手段により前記導管を通る前記粒子の流れを阻止し、これにより前記粒子が実質的に前記焦点領域に付着し；

少なくとも前記液体サンプルを検定することを含む粒子の前記付着を処理し、これにより前記粒子の表面上に前記リガンド/結合複合体を作りだし；

前記複合体を刺激してこれにより特異的放射線をここから起こさせ；そして前記レンズ手段により伝達される前記特異的放射線の放出を検出することからなる前記方法。

29. 前記処理が、前記複合体の少なくとも一部でその表面の少なくとも一部分において前記粒子を被覆し；

前記複合体を蛍光標識物で標識化し；

前記導管手段を通して前記粒子を付着し洗放を流して標識化複合体から未反応および蛍光標識物を分離する；

ことからなる請求項28記載の検定方法。

30. 前記刺激が前記標識化複合体上へ動起放射線を向かわせ；前記特異的放射線は動起した標識化複合体から生じそして前記レンズ手段を通ずる蛍光からなる請求項28記載の検定方法。

明細書 検定システム

本発明は、化学的および生化学的検定に関し、さらに詳しくは蛍光分析のための改善された光学的装置および方法に関する。

試験下のサンプルおよび1個以上の試薬のアリコートが高い特異的反応で強々に反応させてリガンド/結合複合体たとえば抗原/抗体または類似の複合体を形成し、次いでサンプルからの予め決められた部分の方面についてサンプルを調べ、ために観察するという検定がよく知られている。代表的なものとしては、抗体を用いてこの抗体と特異的な抗原の存在について検定するが、しかしこのような検定はハプテンたとえばホルモン、アルカロイド、ステロイド、抗原、抗体、核酸およびそのフラグメントの量を決めることにまで広げられ、ここで使用される用語「リガンド/結合」は広い意味で理解されるべきである。

感受性免疫検定は、一般には複合体の標識化成分をたとえば試薬中に混入し、非複合化標識試薬を次いで複合化試薬から分離するトレーサー技術を使用する。複合化物はその標識成分からのシグナルを観察することにより定量することができる。放射同位元素、蛍光および化学ルミネッセント分子、比色標識物および他のマーカーを用いて複合体の成分または一部を標識化しそして適当な装置を使用して標識物からの放射線を検定しそして測定する。

結合複合体の少なくとも一の成分を複合体の形成に先立って最初に固体支持体へ結合するような検定では、支持体にこの成分を結合するために必要とされる時間が一般に長い間基本的問題が生じる。蛍光分析、たとえば普通の96凹部微量測定板において実施されるようなものは固相に成分を結合するために何時間という程度の時間を必要とし、これにもかかわらず加熱、振盪等のような手技も併用する。リガンドと結合または検定するために利用可能に作られた固相の表面積が増加すると、結合の遅れはかなり減るということはわかるであろう。したがって、このような固相分析（たとえば微量測定凹部分析、ディップスティック分析等）に関連する先行技術もまた固相として小さな粒子またはビーズを使用することを示している。

充填された粒子ベッドを通してサンプルを流すと、検定されるサンプルリガ

ンドと粒子の表面に固定化された結合体との間の反応を促進する。たぶん幾つかの要因がこの強化された反応性：低下する拡散距離、乱流のためのサンプルの定期的攪拌および暴露される表面積が高いための反応容量における結合部位の高密度に寄与するであろう。

公知の粒子分析は、機械的フィルターを介して通過させることにより収集したビーズを非収集したビーズから分離する定量的または半定量的スライド収集および技術を含むよく知られたビーズ凝集試験を含む。別の公知の粒子分析は米国特許第4,780,423号に開示されており、これはその上に固定化されたリガンドを有する固相された多孔度の粒子を懸濁液中でインキュベートして洗浄するものである。洗浄は粒子の沈降および再懸濁を含むことができる。得られた蛍光強度を直接または懸濁液からのいずれかから読み取ることができる。さらに別の公知分析で、粒子を固相またはフィルターに結合させ次いでサンプルをこれを通して注入する。この技術は酵素比色検出に制限されると考えられる。粒子を水性懸濁液中でインキュベートする場合、サンプルにおける遊離リガンドが検知しなければならない平均拡散距離および複合体の形成が完了するまでに必要な時間が非常に大きくなるという傾向がある。

それ故、本発明の原則的目的は、固相の表面積の増加、拡散距離の低下、および固相間の励起光源に対する光学的結合ならびに固相と検出物との結合の強化により反応速度および感度が向上した改善された光学的分析システムを提供するものである。本発明の別の目的は、サンプルと検出物との間の望ましい強化をもたらす新規フローセルを提供するものである。さらに本発明の別の目的は、少量のサンプルを必要としそして特に全血の分析に適するような検定システムを提供すること：リガンド/結合反応を、フローセルの光学的システムから容易に挿入および取り外し可能である使い捨てアイテム内に制限するような分析システムを提供すること；および分析されるサンプル部分以外の所望の複合体の成分の全てを前もって準備するような分析システムを提供することである。

本発明の他の目的は、一部は明らかであり一部は以後明らかになるであろう。一般に、本発明の前述のそして別の目的は励起すると電磁線を放出する予定の標識物(tagまたはlabel)を用いて、液体サンプルを検出するためのシステムにより

達成され、該システムは液体流れを通ずる中空の光透過性導管手段と、該導管手段に設けられた光透過性物質の一つ以上の分かれた多孔性塊状物とを含み、光透過性物質の塊状物の多孔度はサンプルの液体流れがその中を流れることを許すように選択され、それぞれのリガンド/結合複合体、たとえば特異的結合リガンドの少なくとも一部は各塊状物の表面に予備位置する等のようにして固定化されてなるものである。

一実施態様において、塊状物は、好ましくは實質的に光透過性の、特に形成された複合体が蛍光標識物を含む場合、蛍光を励起するのに必要な輻射線および励起された蛍光の両方とも透過する複数の粒子を含む。粒子は一般に特定の範囲内の直径の寸法のビーズであり、焼結等により予備形成される。これに代わり、導管手段に設けられた流動性多孔質バリアー手段に付着することにより塊状物を形成することができる。後者の場合、バリアー手段は導管手段内に設けこれにより重の少なくとも一つの壁を形成し、該バリアー手段の多孔度は前記範囲より十分小さくこれにより導管手段を通る液体流れに混入している粒子がバリアー手段により捕獲されそして付着して重に多孔性塊状物を形成する。

本発明の好ましい実施態様は、これを通る導管手段がレンズ手段の光学軸を横断して伸びそしてその焦点領域を通過する中空の管状通路を形成する集束光学レンズ手段を含む。一般的には、レンズ手段は複数のレンズを含み、そして導管手段はこれらレンズの一つを運って伸びる。励起すると電磁線を放出する予定の標識物またはラベルを用いてシステムを使用する場合、レンズ手段は励起および放出輻射線の両方ともを束ねることができるに違いない。

したがって、本発明は、構成、要素の組み合わせおよび部品の配置を有する装置、および幾つかの工程とこのような工程の一つ以上とその他のものそれぞれとの関係を含む方法を含むものであり、全ては以下の詳細な記載に例示したものおよび請求の範囲に示される出願の範囲である。

本発明の性質および目的をさらに十分理解するために、添付の図面と関連する以下の詳細な説明を参照すべきであり、幾つかの図面中間同じ数字は同じ部分を示すために用いられている。

第1図は、本発明の原理を具体化する分析装置の横断面模式図であり；

第2図は、本発明のフローセルの一実施態様の概略横断面図であり；

第3図は、第2図のフローセルの横断面図であり；

第4図は、第2図の成形フローセルの概略横断面図であり；

第5図は、本発明の別の成形フローセルの概略横断面図であり；

第6図は、第5図の成形フローセルの概略横断面図であり；

第7図は、第5図の別の成形フローセルの概略横断面図であり；

第8図は、本発明のさらに別のフローセルの実施態様の概略横断面図である。

第1図では、液体サンプルを分析するための例示的装置20を示し、これは励起線を提供するための光源22、励起線により励起された光を検出するための光検知器24、たとえば二色性ミラーまたは半透明ミラーのようなビームスプリッター手段26およびコレクター手段28を含む光学システムを使用する。第1図、第2図および第3図の実施態様は、説明の容易性のために、蛍光免疫検定法の関係で特に使用することについて記載しているがしかしこれに限定されるべきではないことは理解されるべきである。ここで使用する用語「光」とは、可視スペクトルならびに紫外線および紫外線付近の波長も含むものと理解されるであろう。同様に、用語「励起」とは、蛍光の励起、照射によるような蛍光されるかまたはされない化学製品による化学ルミネッセンスの励起、クロモゲンからの光の反射による放出等を含むものと理解されるであろう。

光学システムの前述の要素は一般に相互に固定された光学的関係でフレーム（図示せず）に設けられており、これは後にさらに十分に記載される。さらに、本発明は特に第2図および第3図で拡大形で示されているフローセル30を含み、この実施態様では、一般にガラス、高分子量ポリマーまたは類似物で作られる固体集束レンズ32を含む複合レンズシステムとして示される集束光学レンズ手段32から形成される。レンズ32は、レンズ32の光学軸を横断する方向に向かう細長い中空チャンネルまたは液体流れを案内する導管34を有しそしてレンズ32を通る一般に円形断面の管状通路からなることを特徴とする。このような円形断面管状の反応室38の少なくとも一部はレンズ手段32の焦点領域に設けられている。

すなわち、たとえばそれ自体または適切な標識物を介して励起したたとえば

蛍光を発光することができるリガンドを含む液体が直34を横断しそしてレンズ手段32により直34上へ集められた励起放射線によりここで適切に励起されて発光すると仮定する。この蛍光発光を次いでレンズ手段により検出器24へ向かわせ、ここでたとえば検出器が電気的な場合、適当な電気信号が起きて蛍光を調べるために評価することができる。

より良い信号-リガンド比を提供するために、第4図で示す実施態様は寸法が決められそしてレンズ手段32の焦点領域に隣接する導管34に設けられた機械的流動性多孔質バリアーまたはスクリーン38を含み、これにより導管を通る流れ中にある予め決められたサイズの粒子またはビーズ40の輸送を阻止する。このようなビーズは励起放射線および励起した蛍光の両方に対し実質的に透過性であり、そのためにはポリメチルメタクリレート、ステレンジビニルベンゼンコポリマー等で形成されている。ビーズ40は、ビーズの表面の少なくとも一部に設けられた抗原/抗体複合体たとえば特異的結合リガンドたとえば抗原とこれに対する抗体の少なくとも一部で被覆されている。

スクリーン38のメッシュまたは多孔度は、サンプル液体とその構成成分を自由に流すが被覆ビーズの流れを阻止するように選択され、これによりビーズ40の塊状物をスクリーンに押しつけてレンズ手段32の焦点領域において付着させる。ビーズの粒径は最小であるように選択されるが、しかしながらビーズの塊状物がスクリーン38に押し付着する場合サンプル構成成分は付着塊状物を未だに自由に通過させるようにする。一般に、サンプルとして全血に十分に作用するビーズ径は50-250 μm の範囲、好ましくは約98 μm である。もちろん、ビーズ径はある程度サンプルの性質による(たとえば、血液、食物、尿、プロセス流れ等)。もちろん、メッシュ径はシステムで使用されるべきビーズの直径範囲によるが、しかし一般には、直径約98 μm のビーズに対してメッシュ径約50 μm が適当である。すなわち、サンプル液体が導管34を流れるとこれは被覆されたビーズ40の付着した塊状物を通らなければならないので、その結果、検定部分がビーズ上の皮膚と複合化するために通らなければならない拡散距離が非常に小さくなる。この小さな拡散距離は、付着した塊状物を通るサンプルの長く湾曲した通路およびビーズの高い表面/容積比と組み合わせるサンプルからの検定部分の非常に有

効な捕捉を可能にする。本発明のこの特性は、拡散時間が拡散距離の二乗により減少するので重要である。また完全な固相が付着した塊状物中に非常に少量(たとえば、直径0.18 cm の代表的導管に対し約0.02 cm^3) 含まれ、そしてレンズ32中に"浸漬"されすなわち励起および検出システムの間に高い開口数の光学的結合を提供する。蛍光シグナルは四番目の力である開口数により増加されるので、高い開口数の光学的結合が非常に重要である。

第4図に示す本発明の操作において、多数のビーズ40は好ましくは吸着または他の公知の固定化技術によりビーズ表面に固定化された適当なリガンドとともに予め添加され、そして懸濁する液体中に懸濁される。ビーズが管通は懸濁する液体中に安定な懸濁液を容易には形成しない場合、これらをポルトクサー(図示せず)または同様のミキサーに入れ、懸濁液中のビーズを攪拌により水性に維持するようにしてもよい。ビーズ懸濁液の所望の部分ポンプ(図示せず)によりポルトクサーから吸出し、導管34へ注入し、ここでビーズの流れをスクリーン38により阻止し、反応室36内にビーズ40の付着物または塊状物を作る。検定されるサンプル溶液のアリコートは次いで導管34を通して流し、そして反応室36中のビーズ40の塊状物はビーズの表面上にリガンド/結合複合体を形成する効果がある。よく知られているように、結合型分析については、サンプル溶液をフローセルに流す前に、一般にサンプル溶液を最初に標識試薬で処理し、インキュベートする。検定がサンドイッチ型検定の場合、サンプル溶液をフローセルに流し、次いで標識化抗体をセルへ通し、そしてビーズ塊状物に洗浄工程を行う。当該技術でよく知られているように、標識化された一般に蛍光の成分は、融合型またはサンドイッチ型検定のいずれが実施されるかにより、固定化リガンドに対する標識もしくは結合体またはその類似物のいずれかでよい。標識物(tagまたはlabel)は一般に蛍光染料たとえばフルオロセイン染料、アクリジン染料等であり、すべて当該技術でよく知られている。いずれのケースにおいても、得られたリガンド/結合複合体は結合体に対し結合する所望の染料部分を含む。ビーズ塊状物に洗浄用緩衝液を通して洗浄後、いずれの未反応物質および特にいずれの遊離染料成分も洗い出して、ビーズ上に固定化されているような染料部分のみを残す。次いで、光源22を活性化して励起光ビーム23(被覆で示す)を発生させ、次いでこれをコリ

メーターレンズ28により鏡28へ向けさせ、コリメートされたビームをレンズ手段32へ反射させる。検者の焦点を合わせて、反応室36におけるビーズ40の塊状物を位置させている焦点領域へ励起ビームを照らし、そして励起放射線がビーズ40の上の蛍光遷移体を励起して発光にする。この蛍光をレンズ32を通して伝達し、ビームスプリッターミラー28を介して容易に検出することができる。測定を行ったのち、ビーズ40の塊状物を導管34を通して簡単にフラッシュバックすることにより反応室36から直ちに除くことができる。

こうして記載したように、予め添加されたビーズの懸濁液またはプールから反応室を充填する技術は明らかに自動化を受け入れることができ、その際、特異的検定に対する成分、たとえば予め添加されたビーズ、サンプル溶液、標識試薬等は、それぞれの貯蔵容器から物質の流れを調節する適当なバルブにより選択可能である。しかしながら、本発明はまたビーズ塊状物および試薬を直ちに使い捨て可能にする持ち運び自由のシステムにも簡単に適用可能である。

たとえば、導管34を第3図に示し、ここではレンズの光学軸を横断するレンズ手段32の焦点領域を通して簡単に通路とするが、一方、第5図に示す実施態様において、導管34は同様にレンズ32を通るように設けられた均一直径の細長い孔34Aおよび孔34Aよりやや小さい均一直径を有する細長い光透過性管42とからなり、管42は孔に挿入したり取り外ししたりすることができる。スクリーン38は管42内に設けられているので、検者はレンズの焦点領域に隣接して孔34A内に位置することができる。

第6図に示すように、本発明のフローセルのさらに別の実施態様において、導管34は同様にレンズ32を通る均一直径の細長い孔34Aおよび孔34Aのものよりやや小さい均一直径を有する細長い光透過性管42とからなり、これにより管42は孔へ挿入したり取り外ししたりすることができる。スクリーン38および38Bは相互に間隔をあけて管42内に設けられ、これにより管内に反応室44を構成することができる。第5図の実施態様におけるように、反応室44はレンズの焦点領域に隣接する孔34A内に位置することができる。直44の中には特定範囲の直径に寸法が決められた複数のビーズ40が含まれ、スクリーンのメッシュがビーズ直径の範囲より十分小さいので検者は直44においてスクリーンにより捕捉され実質的

にレンズ焦点領域に配置可能に多孔性塊状物を形成する。第6図の実施態様におけるビーズは直44に設ける前に所望の特定の結合リガンドを予め塗布しておくのが好ましい。

第5図および第6図の実施態様の両方において、管42は孔34または34Aに直ちに挿入したり取り外し可能であり、それゆえこのケースは"使い捨て可能"であると考えられることがわかるであろう。特に、第6図に示す"使い捨て可能"は、密封容器に検査により予め添加され充填されるのに適し配布および使用に便利である。第5図および第6図の実施態様の両方において、レンズ32および管42の両方を形成する物質は、そのそれぞれの屈折率が実質的に適合するように選択される。管42およびレンズ32の間の最長光学結合をもたすために、屈折率適合液体を管の周囲で管と孔34Aの内壁の間の間隙に設けることが好ましい。

第6図の実施態様のビーズ塊状物40を、たとえば第5図のビーズ塊状物を作りだすために使用したのと同じ技術、すなわち導管42にビーズ懸濁液を流したたとえば38Bのようなスクリーンに對向して付着させ、次いで別のスクリーンをビーズ塊状物を捕らえるために押えつけることにより形成される。これに代わり、多孔性ビーズ塊状物はまた塊状または接着剤により相互に強く接着した複数のビーズから形成されてもよい。たとえば、ビーズ塊状物は、自立しているかまたは多孔性支持体を塗布するかもしくは一対の多孔性支持体の間にサンドイッチを形成することによりビーズの厚い層をもたすことにより形成することができ、この厚い層は、得られる塊状物の多孔度を実質的に減らさないであろう少量の接着剤を含む。硬化後、皮膚を適当な特異的反応性リガンドで予め塗布し、皮膚の小さい円形を打ち抜き、そして適当な寸法の管42へ挿入する。これに代わり、所望の多孔性の高分子量ポリマー物質のシートが市販されており、多孔性透過体内に必要なリガンドを固定化するための処理後、これを打ち抜き、管42へ挿入するための所望の円形を作ることができる。すなわち、複数のビーズ塊状物を準備し、各々を異なるリガンドで塗布する。得られた複数のビーズ塊状物を、第7図に示すように一本の管42に置き、これにより複数の異なるリガンドについて別々にしかししばしば同時に管を通るサンプル流れを検定する。

第8図に示すように、導管34を長く細長いチャンネル34Bまたは断面半円形カッ

トの半管状部分として部分的に形成するかまたはレンズの光学軸に垂直にそしてレンズ手段32の焦点領域を通過して伸びるレンズ33の平面48へ型作りを行う。導管34の残りは、プレート50に設けられた半円形断面の別の半管状の細長いチャンネル34Cにより形成される。後者は一般にヒンジ52により表面48に隣接するレンズ32に接続し、これによりプレート50を回転して同軸関係にチャンネル34Cおよび34Bを適合させ、実質的に円形断面の適合せ導管を形成することができる。好ましい実施形態において、チャンネル34Cの内側表面は高度に反射性の皮膜54が設けられている。

ここに含まれる本発明の範囲から逸脱することなく上記方法および装置において一定の变化を行うことができるので、上記記載に含まれるかまたは添付の図面に含まれる全ての事項は説明におけるもので限定するものではないと解釈されるべきである。

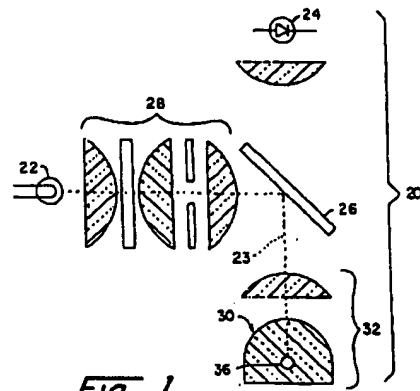


Fig. 1

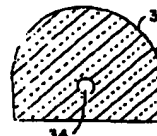


Fig. 2

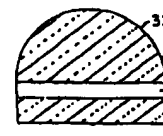


Fig. 3

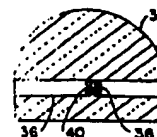


Fig. 4

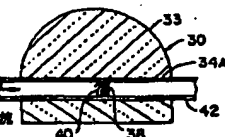


Fig. 5

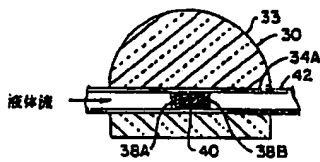


Fig. 6

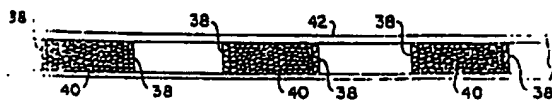


Fig. 7

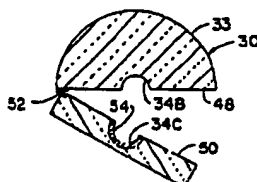


Fig. 8

国際調査報告

International application No.
PCT/JP83/00003

| | | |
|--|--|--------------------------|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC Class. H01L 33/00 US CL. 359.001, 359.002 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | |
| B. FIELD OF SEARCH Address document number (classification system defined by classification symbols) US - Patent Office Search | | |
| C. RELEVANCE OF DOCUMENTS TO THE SUBJECT Documents are listed in the International Search Report to the extent that each document is included in the field searched Documents are listed in the International Search Report to the extent that each document is included in the field searched Documents are listed in the International Search Report to the extent that each document is included in the field searched | | |
| Category | Class of document, with indication, where appropriate, of the nature of the document | Relevance to the subject |
| X | US, A. 4,425,438 (BAUMAN et al) 10 January 1984, see entire document. | 1,3 3,7,7,8,12-30 |
| X | US, A. 4,714,343 (SCHRADER) 22 December 1987, see entire document. | 5,6,9,10 7,8,11-30 |
| Y | US, A. 3,025,142 (WILLIAMS) 13 March 1962, see entire document. | 3,4,30 |
| Y | US, A. 4,632,333 (JOLLEY) 24 March 1987, see entire document. | 27,29,30 |
| A | US, A. 4,059,685 (JOHNSON) 22 November 1977, see entire document. | 1-30 |
| D. Further documents are listed in the International Search Report. See patent family notes. | | |
| E. Other documents of interest Documents are listed in the International Search Report to the extent that each document is included in the field searched Documents are listed in the International Search Report to the extent that each document is included in the field searched Documents are listed in the International Search Report to the extent that each document is included in the field searched | | |
| F. Date of the most complete of the International Search Report 21 August 1983 | | |
| G. Date of mailing of the International Search Report 28 SEP 1983 | | |
| H. Name and mailing address of the ISAIS Communications of Patents and Trademarks P.O. Box 1000 Washington, D.C. 20541 | | |
| I. Authorised officer JAMES C. HOOVER Telephone No. (703) 205-5100 | | |

| 國際調查報告 | | |
|--|---|------------------------|
| International Application No. PCT/JP93/00067 | | |
| C. REFERENCES. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category | Content of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Reference to claim No. |
| A | US, A, 3,492,396 (DALTON et al) 27 January 1970, see entire document. | 1-4 |

Form PCT/ISA/210 (continued on second sheet) July 1992a

| 國際調查報告 | |
|--|--|
| International Application No. PCT/JP93/00067 | |
| <p>D. FIELDS SEARCHED</p> <p>Minimum Documentation searched</p> <p>Classification System: U.S.</p> <p>42375.01, 182, 48.01, 82.05, 82.06, 99, 104; 425/000; 426/ 164, 165, 172, 227, 230, 231, 244, 247, 248; 52/ 287, 482, 229/000; 1/2/2nd</p> | |

Form PCT/ISA/210 (first sheet) July 1992a